ÜBER DIE KONSTITUTION DER HYO-DESOXYCHOLSÄURE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der hohen
mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Georg August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Richard Koch
aus Göttingen

Göttingen 1925

Druck der Dieterichschen Universitäts-Buchdruckerei
von W. Fr. Kaestner

Referent: Prof. Dr. A. Windaus.

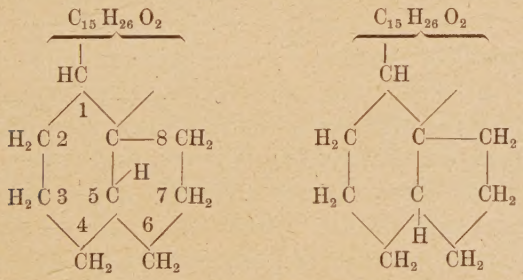
Tag der mündlichen Prüfung: 27. August 1924.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

1. Theoretischer Teil.

Durch die Arbeiten von Bohne[1]), sowie von Knehe[1]) ist erwiesen worden, daß die Galle des Schweines eine neue spezifische Gallensäure enthält, und zwar hat man in der Schweinegalle bisher nur eine einzige Gallensäure auffinden können. Es erscheint allerdings nicht ausgeschlossen, daß noch kleine Mengen von anderen Gallensäuren in der Schweinegalle vorkommen.

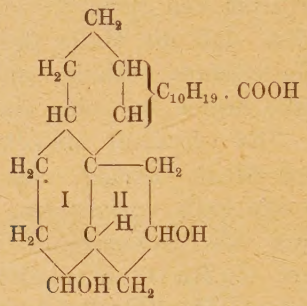
Die Gallensäure der Schweinegalle scheint sich von der Hyocholansäure $C_{24}H_{40}O_2$ abzuleiten, während alle anderen bisher untersuchten Gallensäuren sich von der Cholansäure ableiten. Die Isomerie zwischen Cholansäure und Hyocholansäure ist sterischer Art und sei durch folgende Formeln wiedergegeben.



Die Schweinegallensäure besitzt die Formel $C_{24}H_{40}O_4$ und ist ein Isomeres der Desoxycholsäure der Rindergalle. Sie hat den Namen Hyo-desoxycholsäure erhalten. Sie

1) Dissertationen, Göttingen 1923 und 1924.

enthält zwei sekundäre Alkoholgruppen und eine Carboxylgruppe, die Bindungsweise aller vier Sauerstoffatome ist also festgelegt. Dagegen ist die Stellung der sekundären Alkoholgruppen bisher noch nicht ermittelt. Vermutet wurde aus Gründen, die in den Dissertationen von Bohne und Knehe erörtert sind, die 4 und 7 Stellung der beiden Hydroxylgruppen. Wenn wir die von H. Wieland[1]) kürzlich in Vorschlag gebrachte Formel für die Cholsäure unseren Anschauungen zugrunde legen, so käme der Hyo-desoxycholsäure folgende Formel zu:



Meine Aufgabe war es nun, die Stellung der beiden sekundären Alkoholgruppen sicher zu ermitteln. Zu diesem Zwecke wurde zunächst der Versuch gemacht, die Hyo-desoxycholsäure mit verdünnter Kaliumpermanganatlösung zu oxydieren. Hierbei konnte ich keine kristallisierten Oxydationsprodukte erhalten. Ich ging dann folgendermaßen vor: Ich bereitete aus der Hyo-desoxycholsäure durch Oxydation mit Chromsäure-Schwefelsäure die entsprechende Diketosäure, die den Namen Hyo-dehydro-desoxycholsäure erhalten soll. Sie schmilzt nach vorherigem Sintern bei 166° unter Braunfärbung. Diese Säure wurde nun in verdünnter, ammoniakalischer Lösung mit Kaliumpermanganat oxydiert. Ich hoffte auf diese Weise den Ring I an der Ketogruppe aufzuspalten und zu einer „Desoxybiliansäure" zu gelangen. Leider war die Ausbeute an kristallisierten

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 134, Seite 281.

Oxydationsprodukten sehr gering; der Schmelzpunkt des kristallisierten Materials lag etwa bei 225 bis 230°.

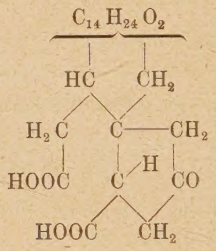
Einmal hatte ich bei der Herstellung von Hyo-dehydro-desoxycholsäure ein Produkt aufgefunden, das zwar gut kristallisierte, aber nicht bei 166°, sondern wesentlich höher, etwa bei 190 bis 195° schmolz. Ich erhielt dann öfter Produkte, deren Schmelzpunkte zwischen 170 und 200° lagen. Ich vermutete hier Gemische der Hyo-dehydro-desoxycholsäure und der Hyo-desoxybiliansäure in Händen zu haben und versuchte, sie durch weitergehende Oxydation mit Kaliumpermanganat vollständig in die Hyo-desoxybiliansäure zu verwandeln. Dabei erhielt ich tatsächlich die Säure vom Schmelzpunkt 225 bis 230°, aber in wesentlich besserer Ausbeute als bisher. Verwendete ich später wieder Hyo-dehydro-desoxycholsäure vom Schmelzpunkt 166°, so bekam ich wieder nur ganz geringe Mengen an kristallisiertem Oxydationsprodukt. Schließlich stellte ich fest, daß die Veränderung des Schmelzpunktes der Hyo-dehydro-desoxycholsäure 166° nicht durch „Überoxydation“ mittels Chromsäure zustande kommt, sondern daß die Säure 166° schon während des Umkristallisierens aus heißem Eisessig ihren Schmelzpunkt verändert und in ein Produkt übergeht, das nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Eisessig und aus Aceton bei 210° schmilzt. Oxydiert man nun dieses Produkt mit Kaliumpermanganat weiter, so erhält man etwa 30 Prozent an kristallisiertem Oxydationsprodukt. E. Knehe hat in seiner Dissertation die nähere Untersuchung der Hyo-dehydro-desoxycholsäure vom Schmelzpunkt 166° und die daraus entstehende Säure vom Schmelzpunkt 210° beschrieben. Er fand, daß beide Säuren Diketo-monokarbonsäuren sind. Die Säure 166° enthält ein Mol Wasser mehr, als der Formel $C_{24}H_{36}O_4$ entspricht, die Säure vom Schmelzpunkt 210° entspricht der Formel $C_{24}H_{36}O_4$.

Ich untersuchte das optische Verhalten der beiden Stoffe und fand das bemerkenswerte Resultat, daß sie in

Lösung die Ebene des polarisierten Lichtes verschieden drehen. Die Säure vom Schmelzpunkt 166° zeigt deutliche Linksdrehung, während die Säure vom Schmelzpunkt 210° scheinbar überhaupt nicht dreht.

Das bei der Oxydation der Diketo-monokarbonsäure mit Kaliumpermanganat entstehende Produkt schmilzt nach öfterem Umkristallisieren schließlich konstant bei 244°. Die Analyse stimmt auf die Formel $C_{24}H_{36}O_7$ und die Titration beweist, das die Säure dreibasisch ist. Wir haben also in der Tat die erwartete „Hyo-desoxybiliansäure" vor uns. Mit Diazomethan liefert sie einen prachtvoll kristallisierenden Trimethylester, der bei 128 bis 129° schmilzt und bei der Analyse auf die Formel $C_{27}H_{42}O_7$ stimmende Werte liefert.

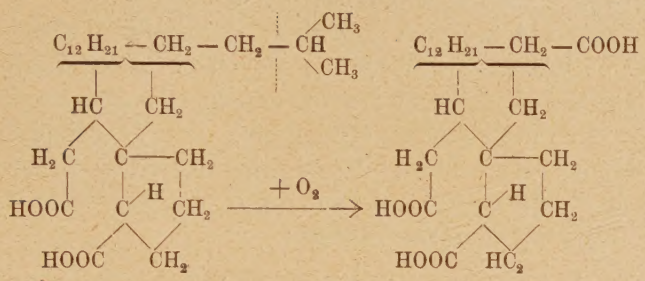
Auf Grund der oben erwähnten Annahme über die Stellung der Hydroxylgruppen in der Hyo-desoxycholsäure würde der Hyo-desoxybiliansäure die folgende Konstitution zukommen:



Falls die Hyo-desoxybiliansäure wirklich diese Struktur besäße, würde sie beim Ersatz der $>CO$ Gruppe durch die $>CH_2$ Gruppe eine Säure $C_{24}H_{38}O_6$ liefern, welche identisch sein müßte mit einer von Windaus und v. Staden [1]) aus dem Dihydro-cholesterin erhaltenen Säure. Windaus und v. Staden bereiteten diese, die im folgenden kurz „Staden'sche Säure" genannt werden soll, durch Abspaltung

1) Dissertation, Göttingen 1920 oder Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft 54^{1063}.

von Aceton aus einer Dikarbonsäure $C_{27}H_{46}O_4$ aus Dihydro-cholesterin:



In der Seitenkette wird dabei eine endständige Isobutylgruppe durch Carboxyl ersetzt. Die fragliche Säure hat den Schmelzpunkt 238°, ihr Trimethylester schmilzt bei 88°. Würde man durch Reduktion der Hyo-desoxybiliansäure tatsächlich zur „Staden'schen Säure" gelangen, so wäre damit die Stelluug der einen sekundären Alkoholgruppe im Ring I in der 4-Stellung festgelegt. Über die Stellung der zweiten Hydroxylgruppe würde man allerdings auf diesem Wege nichts erfahren können.

Mein nächstes Ziel mußte es also sein, die Carbonylgruppe der Hyo-desoxybiliansäure zur CH_2-Gruppe zu reduzieren.

Zuerst versuchte ich die Reduktion mit amalgamiertem Zink und Salzsäure nach Clemmensen. Nach dreistündiger, ja sogar nach vierundzwanzigstündiger Einwirkung von Zinkamalgam und starker Salzsäure wurde die Hyo-desoxybiliansäure unverändert zurückgewonnen und mit Hilfe ihres Trimethylesters identifiziert. Daß die Reduktion nach Clemmensen hier nicht zum Ziele führt, überrascht deshalb nicht sehr, weil sich die analogen Säuren der Rindergalle nach dieser Methode ebenfalls garnicht, oder nur sehr schwer reduzieren lassen. Es wurde nun noch der Versuch unternommen, die Reduktion unter Verwendung von Buttersäure als Lösungsmittel durchzuführen,

in der Hoffnung, daß bei der hohen Temperatur der siedenden Buttersäure die Reduktion gelingen würde. Diese Hoffnung erwies sich indessen als trügerisch.

Ich versuchte nun mit Hilfe der Reduktionsmethode nach L. Wolff zum Ziele zu kommen. Das Verfahren beruht darauf, daß man das Hydrazon oder das Semikarbazon der betreffenden Ketonsäure mit Natriumäthylat im Bombenrohr erhitzt. Dabei wird Stickstoff abgespalten und die CH_2-Gruppe gebildet. Für das Hydrazon haben wir folgendes einfache Schema:

$$>C=N-N\,H_2 \rightarrow >CH_2 + N_2$$

Die Reaktion mit dem Semikarbazon verläuft ähnlich.

Das Verfahren ist in dieser Gruppe zuerst von Windaus und Grimmel [1]) mit Erfolg zur Reduktion einer >CO-Gruppe verwendet worden, die sich nach Clemmensen nicht reduzieren ließ. Ferner haben Borsche und Hallwaß [2]) mit Hilfe des Reduktionsverfahrens nach Wolff die Überführung von Biliansäure, bezw. Desoxybiliansäure in Lithobiliansäure erreicht.

Bei meinen Versuchen verlor ich viel kostbares Material dadurch, daß mir wiederholt die Bombenrohre während der Reduktion zersprangen. Ich habe dann die Versuche schließlich im Autoklaven vorgenommen. Ich bereitete zunächst das Hydrazon der Hyo-desoxybiliansäure, indem ich diese Säure mit Hydrazinhydrat auf dem Wasserbade eindampfte und das pulverisierte Rohprodukt direkt zur Reaktion verwendete. Nach achtstündigem Erhitzen mit Natriumäthylat im Autoklaven auf 180 bis 190° konnte ein in Nadeln kristallisierender Stoff gewonnen werden, der beim Erhitzen zwischen 285 und 295° schmolz und sich als stickstoffhaltig erwies. Er hatte

1) Dissertation, Göttingen 1921.

2) Dissertation, Göttingen 1922 oder Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft 55^{3324}.

das Äquivalentgewicht 196. Die erwartete „Staden'sche Säure“ konnte also nicht vorliegen. Da für uns zunächst nur die Bereitung einer Säure $C_{24}H_{38}O_6$ von Interesse war, wurde das stickstoffhaltige Material nicht weiter untersucht.

Ich nahm dann dieselben Versuche mit dem Semikarbazon vor. Erhitzt man das Semikarbazon mit Natriumäthylat sechs bis acht Stunden auf 180 bis 190° im Autoklaven, so gewinnt man verschiedene Reaktionsprodukte; eine Trikarbonsäure vom Schmelzpunkt 270° scheint die Formel $C_{24}H_{36}O_7$ zu besitzen. Der Trimethylester dieser Säure schmilzt bei 142° und ist vermutlich nach der Formel $C_{27}H_{42}O_7$ zusammengesetzt. Der neue Stoff hat vielleicht noch dieselbe Bruttoformel wie die Hyo-desoxybiliansäure, unterscheidet sich aber deutlich in seinen Eigenschaften von ihr. Es erscheint möglich, daß sich bei dieser Reaktion die Transform der Hyo-desoxybiliansäure gebildet hat. Ein Versuch ergab, daß die Säure vom Schmelzpunkt 270° unzersetzt destillierte. Auch beim achtstündigen Erhitzen mit Essigsäureanhydrid im Bombenrohr wurde sie nicht verändert.

Erhitzt man das Semikarbazon im Autoklaven mit Natriumäthylat bis auf 220°, so erhält man wieder eine stickstoffreie, kristallisierte Säure, die etwa bei 240° schmilzt. Der Trimethylester dieser Säure schmolz zuerst bei 80 bis 82°, sodaß ich schon hoffte, den Trimethylester der „v. Staden'schen Säure“ gefaßt zu haben. (Staden'sche Säure: Schmelzpunkt 238°, Trimethylester: Schmelzpunkt 86°.) Beim Umkristallisieren stieg der Schmelzpunkt des Esters aber bis auf 108°. Durch Verseifung dieses Esters erhielt ich eine Säure vom Schmelzpunkt 240°. Die Analyse der Säure stimmt auf die Formel $C_{24}H_{38}O_6$, sie hat also die erwartete Zusammensetzung, ist aber nicht identisch, sondern isomer mit der „Staden'schen Säure“, ebenso ist sie isomer mit der Litho- und der Isolithobiliansäure.

In den Mutterlaugen des Esters 108° wurden noch

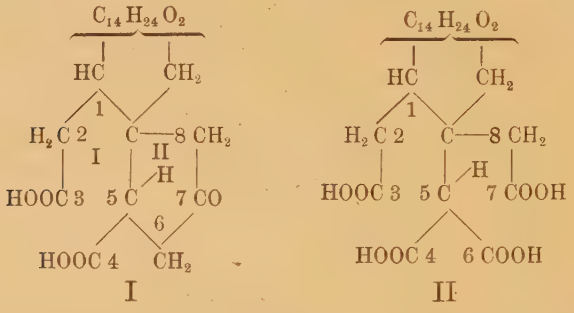
zwei weitere Ester gefunden. Der eine schmolz bei 71 bis 72°, der andere bei 92 bis 94°. Ob diese beiden Stoffe einheitlich sind, erscheint nicht ganz sicher. Einen Ester vom Schmelzpunkt 88°, also den „Staden'schen Ester", habe ich nicht gefunden. Immerhin ist es nicht ganz ausgeschlossen, daß das eben beschriebene Estergemisch doch den Ester 88° enthält. Bei den geringen Mengen Materials, die mir zur Verfügung standen, war eine Trennung indessen ausgeschlossen.

Da die bisherigen Versuche nicht zum Ziel geführt hatten, wurde ein neuer Weg beschritten. Ich wollte versuchen, die Ketogruppe der Hyo-desoxybiliansäure mit Natrium und Alkohol zur entsprechenden sekundären Alkoholgruppe zu reduzieren. Dann sollte der Ester der entstandenen Oxysäure durch Destillation im Hochvakuum ein Molekül Wasser abspalten und in den Ester einer ungesättigten Trikarbonsäure $C_{24}H_{36}O_6$ übergehen, der durch katalytische Hydrierung in den gesuchten „Staden-schen Ester" überführt würde. Der Versuch ergab nun, daß die Hyo-desoxybiliansäure durch Natrium und Alkohol in der Siedehitze überhaupt nicht verändert wurde. Ich nahm aber trotzdem die geplante Destillation vor. Es wurde der Ester der Hyo-desoxybiliansäure der Destillation bei 4 mm Druck unterworfen. Er destillierte nicht unzersetzt, sondern lieferte ein nicht ganz leicht kristallisierendes Gemisch verschiedener Stoffe. Durch häufiges Umkristallisieren aus den verschiedensten Lösungsmitteln konnte schließlich ein Ester gewonnen werden, der konstant bei 142° schmolz. Verseifte man ihn, entstand eine Säure vom Schmelzpunkt 265 bis 266°. Die Titration ergab einen guten Wert für eine Dikarbonsäure. Die Methoxylbestimmung des Esters paßte ebenfalls auf zwei Methoxylgruppen. Leider konnten wegen Substanzmangels für den Ester 142° keine richtigen Analysen und Methoxylbestimmungen erhalten werden. Aber die Analyse der Säure 265 bis 266° stimmte gut auf die Formel $C_{23}H_{36}O_5$.

Demnach hätte die Substanz ein Molekül CO_2 abgegeben. Leider gelang es bisher nicht, aus den Destillationsprodukten noch einmal den Ester 142° wiederzuerhalten. Destilliert man den Trimethylester der Hyo-desoxybiliansäure bei etwa 0,5 mm Vakuum, so erhält man ein nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Ligroïn und verdünntem Methylalkohol prächtig kristallisierendes Produkt, das aber trotz der scheinbar einheitlichen Kristallform nicht konstant schmilzt, also ein Gemisch darstellt. Mit Sicherheit als einheitlich konnte ein Stoff erkannt werden, der bei 120 bis 121° schmolz. Die Analyse dieses Esters stimmt auf die Formel $C_{26}H_{38}O_6$. Der Stoff würde also bei der Destillation ein Molekül CH_3OH abgegeben haben. Damit stimmt die Methoxylbestimmung überein, die einen Wert für zwei Methoxylgruppen ergibt. Bei der Verseifung entsteht die Hyo-desoxybiliansäure zurück, die wieder mit Hilfe des Esters 128 bis 129° identifiziert werden kann. Dieses Verhalten spricht für einen Laktonring im Ester 120 bis 121°. Vielleicht hat die Abspaltung des Moleküls Methylalkohol nach Enolisierung der Ketogruppe des Fünfringes in der Weise stattgefunden, daß ein Enollaktonester entstanden ist. Im Destillationsgemisch befindet sich noch ein Ester, dessen Schmelzpunkt bei 107 bis 109° liegt. Dieser Stoff ist ein Isomeres des vorigen Esters. Es ist bemerkenswert, daß er beim Verseifen ebenfalls Hyo-desoxybiliansäure zurückliefert. Diese eben mitgeteilte Tatsache, daß sich der Ester der Hyo-desoxybiliansäure nicht unzersetzt destillieren läßt, sondern entweder CO_2 oder CH_3OH abspaltet, ist höchst überraschend und eigentümlich.

Es ist also in der vorliegenden Arbeit nicht gelungen, zu dem erwarteten Ester, bezw. der „Staden'schen Säure“ zu gelangen. Aus diesem Grunde ist es vielleicht erlaubt, Zweifel an der Richtigkeit der oben aufgeschriebenen Formel der Hyo-desoxycholsäure zu hegen. Mehr kann aber aus den bisherigen Versuchen nicht geschlossen werden.

Nach diesen zahlreichen vergeblichen Versuchen versuchte ich schließlich noch die Einwirkung von Salpetersäure auf die Hyo-desoxybiliansäure in der Hoffnung, hierbei den Ring II aufzusprengen und die Hyo-choloïdansäure zu bereiten. Diese Reaktion gelingt glatt bei der Desoxybiliansäure des Rindes und wird durch folgende Formeln veranschaulicht:



Formel I stellt die Hyo-desoxybiliansäure dar und Formel II die erwartete Hyo-choloïdansäure. Die Desoxybiliansäure und die Choloïdansäure der Rindergalle unterscheiden sich von diesen Formeln, abgesehen von der sterischen Stellung des Wasserstoffatoms am Kohlenstoffatom 5, nur dadurch, daß die Karboxylgruppen des Ringes I nicht in 3 und 4, sondern in 2 und 3 stehen.

Die Einwirkung von Salpetersäure auf Hyo-desoxybiliansäure verlief unerwartet. Bei der Einwirkung von Salpetersäure auf Hyo-desoxybiliansäure erhielt ich tatsächlich Kristalle, die sich aber nicht als Hyo-choloïdansäure erwiesen. Die Titration ergab ein Äquivalentgewicht, das durchaus nicht auf die erwartete Pentakarbonsäure paßte, auch war die Substanz stickstoffhaltig. Die Verbrennung zeigte, daß der neue Stoff eine Nitro-hyo-desoxybiliansäure ist. Diese schmilzt bei 217 bis 218° unter Zersetzung. Die Titration stimmt leidlich auf eine Trikarbonsäure $C_{24}H_{35}O_9N$. Der Trimethylester vom Schmelzpunkt 176 bis 177° gab richtige Analysenzahlen.

Daß eine Gallensäure bei der Behandlung mit ziemlich starker Salpetersäure eine Nitrogruppe aufnimmt, ist eine in der Chemie der Gallensäuren noch nicht beobachtete Reaktion. Vielleicht wird es möglich sein, die Nitrogruppe durch Zinkstaub und Eisessig zu reduzieren und das so gebildete Reaktionsprodukt systematisch weiter abzubauen. Vorversuche in dieser Richtung haben ein kristallisiertes Reduktionsprodukt in kleiner Menge ergeben. Die Untersuchung wird auch in dieser Richtung im hiesigen Institut weitergeführt.

2. Experimenteller Teil.

Darstellung von Hyo-dehydro-desoxycholsäure vom Schmelzpunkt 209 bis 210°.

Hyo-dehydro-desoxycholsäure vom Schmelzpunkt 161 bis 162° (über deren Darstellung siehe Dissertation Knehe, Göttingen 1924) wird in der eben erforderlichen Menge kalten Eisessigs gelöst, die Lösung mit einem Tropfen konzentrierter Salzsäure versetzt und etwa eine bis zwei Stunden unter Rückfluß gekocht. Auf vorsichtigen Zusatz von Wasser fällt die wasserfreie Säure kristallin aus. Sie wird aus Essigsäure und zuletzt aus Aceton umkristallisiert und schmilzt in reinem Zustande bei 209 bis 210°.

Bestimmung der optischen Drehung der beiden Hyo-dehydro-desoxycholsäuren.

0,187 g Hyo-dehydro-desoxycholsäure vom Schmelzpunkt 161 bis 162° in 10 ccm 96%igem Äthylalkohol zeigten bei 18° eine Linksdrehung von 1°23′. Daraus berechnet sich für

$$[\alpha]_D^{18} = \frac{\alpha}{l \cdot c} = -65{,}9°.$$

Eine Kontrollbestimmung ergab:

$$[\alpha]_D^{23} = \frac{\alpha}{l \cdot c} = -66{,}9°.$$

Die Hyo-dehydr-odesoxycholsäure vom Schmelzpunkt 209 bis 210° zeigte keine optische Drehung.

Darstellung der Hyo-desoxybiliansäure aus Hyo-dehydro-desoxycholsäure vom Schmelzpunkt 209 bis 210°.

3 g Hyo-dehydro-desoxycholsäure 209 bis 210° werden in einem Kolben von etwa zwei Liter Inhalt in verdünn-

tem, warmem Ammoniak gelöst. Nach dem Abkühlen versetzt man die ammoniakalische Lösung mit einer ebenfalls abgekühlten Lösung von 3 g Kaliumpermanganat in 1200 g Wasser; das entspricht drei Atomen Sauerstoff; in der sehr verdünnten Kaliumpermanganatlösung geht die Oxydation sehr allmählich vor sich. Man läßt über Nacht stehen, filtriert den ausgeschiedenen Braunstein ab und säuert die Lösung mit verdünnter Salzsäure an; nachdem der Niederschlag sich abgesetzt hat, dekantiert man die darüberstehende klare Flüssigkeit ab, filtriert und kristallisiert das Oxydationsprodukt mehrmals aus Essigester um. Empfehlenswert ist es, die Hyo-desoxybiliansäure über ihren Trimethylester zu reinigen. Dieser wird in der üblichen Weise mit Diazomethan bereitet, aus Methylalkohol und Wasser umkristallisiert und so in schönen Kristallen vom Schmelzpunkt 128 bis 129° erhalten. Durch Verseifen des Esters erhält man sofort sehr reine Hyo-desoxybiliansäure vom Schmelzpunkt 238°. Reinste Säure vom Schmelzpunkt 244° erhält man durch ein- bis zweimaliges Umkristallisieren aus Methylalkohol ohne Wasser und Auswaschen mit Äther. Die Säure schmilzt unter Braunfärbung und Gasentwicklung. Die Verseifung gelingt bei allen Estern, die in dieser Arbeit beschrieben werden, in der Weise, daß man den Ester mit methylalkoholischer Kalilauge einige Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, die Lösung mit Wasser versetzt und nach dem Abdampfen des Alkohols mit verdünnter Salzsäure ansäuert. Durch Umkristallisieren des Niederschlages aus verdünnter Essigsäure, oder in der oben angegebenen Weise, wird die Säure rein erhalten.

Titration der Hyo-desoxybiliansäure.

0,1290 g Sbst. verbrauchten 8,15 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH Äquivalentgewicht für $C_{24}H_{36}O_7$ (dreibasisch) Ber. 145,4, Gef. 158.

Analyse der Hyo-desoxybiliansäure.

2,575 mg Sbst.: 6,211 mg CO_2, 1,996 mg H_2O $C_{24}H_{36}O_7$.
Ber. C 66,04, H 8,31, Gef. C 65,8, H 8,67.

Analyse des Trimethylesters der Hyo-desoxybiliansäure.

3,182 mg Sbst.: 7,900 mg CO_2, 2,402 mg H_2O $C_{27}H_{42}O_7$.
Ber. C 67,77, H 8,85, Gef. C 67,73, H 8,45.

Reduktionsversuche nach Clemmensen.

1 g Hyo-desoxybiliansäure wurde in Eisessig gelöst, die Lösung mit Zinkamalgam und konz. Salzsäure versetzt und drei Stunden gekocht. Beim Abkühlen schieden sich Kristalle aus, die mit Hilfe des Trimethylesters als Ausgangsmaterial identifiziert wurden.

Derselbe Versuch wurde mit 0,2 g Substanz wiederholt und das Kochen 24 Stunden lang fortgesetzt. Auch in diesem Falle wurde unverändertes Ausgangsmaterial zurückerhalten.

Reduktionsversuch mit Biliansäure aus Rindergalle in Buttersäurelösung.

Eine Lösung von 1 g Biliansäure in 15 g Buttersäure wurde mit 15 g Zinkamalgam gekocht, während der Reaktion wurde gasförmiger Chlorwasserstoff in die Lösung eingeleitet. Die Wasserstoffentwicklung war mäßig, die Siedetemperatur des Gemisches lag stets über 155°. Die Lösung färbte sich allmählich gelbbraun; nach acht Stunden wurde die Buttersäure mit Wasserdampf abgeblasen. Im Wasser befand sich ein braunes Öl, das auf keine Weise zum Kristallisieren zu bringen war.

Reduktionsversuche nach L. Wolff.

1 g Hyo-desoxybiliansäure wird in einer Porzellanschale in überschüssigem Hydrazinhydrat gelöst und die Lösung auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft.

0,5 g des so gewonnenen Materials werden in einem kleinen, dickwandigen Becherglase mit 10 ccm einer heiß gesättigten Natriumäthylatlösung versetzt. Dann wird das Gefäß nebst Inhalt in einen kleinen Autoklaven, der schon 10 ccm Alkohol enthält, gebracht und derAutoklav acht Stunden auf 180 bis 190° erhitzt. Nach Ablauf dieser Zeit wird der Inhalt des Becherglases mit Wasser herausgespült, die Lösung filtriert, angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Aus der getrockneten und filtrierten ätherischen Lösung scheiden sich nach dem Eindampfen nach einiger Zeit Kristallnadeln ab, die zwischen 290 und 295° unter Dunkelbraunfärbung schmelzen und in kaltem Aceton und kaltem Äther ziemlich schwer löslich sind. Bei der Prüfung mit Natronkalk erwies sich die Substanz als stickstoffhaltig.

Titration der stickstoffhaltigen Säure.

0,0196 g Sbst. verbrauchten 1,00 ccm NaOH Äquivalentgewicht: Gef. 196.

Darstellung des Semikarbazons der Hyo-desoxybiliansäure.

2 g Hyo-desoxybiliansäure in 30 ccm Äthylalkohol werden mit 2 g Semikarbazidchlorhydrat und 2 g Natriumacetat in 20 ccm Wasser versetzt. Die Lösung wird auf dem Wasserbade erwärmt, sie beginnt sich nach wenigen Minuten zu trüben und scheidet allmählich einen feinkristallinen Stoff ab. Man erwärmt die Lösung sechs bis acht Stunden auf dem Wasserbade, filtriert nach dem Abkühlen das auskristallisierte Produkt ab und versetzt die Mutterlauge mit Wasser. Es fällt noch eine amorphe Verbindung aus, die sich gegenüber Natriumäthylat genau so verhält, wie das kristallisierte Material. Die Kristalle des letzteren schmelzen zwischen 225 und 231° unter Gasentwicklung.

Die Analyse des kristallisierten Materials stimmt nicht auf die erwartete Formel des Semikarbazons: $C_{25}H_{39}O_7N_3$. Die Theorie erfordert nämlich 60,8 % C, 7,97 % H und 8,5 % N. Man muß der Analyse nach annehmen, daß das Semikarbazid Hydrazin abgespalten hat, und daß davon zwei Moleküle irgendwie ins Molekül der Hyo-desoxybiliansäure eingetreten sind, vielleicht unter Bildung eines Hydrazinsalzes oder einer Hydrazonsäure. Jedenfalls stimmt die Formel $C_{24}H_{42}O_6N_4$ gut mit dem Ergebnis der Analyse überein:

3,248 mg Sbst.: 7,103 mg CO_2, 2,454 mg H_2O $C_{24}H_{42}O_6N_4$. Ber. C 59,8, H 8,7, Gef. C 59,66, H 8,45.

0,1006 g Sbst.: 10,3 ccm N_2 (20°, 747 mm). Ber. N 11,6, Gef. N 11,73.

Behandlung des „Semikarbazons“ mit Natriumäthylat im Autoklaven bei 180 bis 190°.

Genau in der entsprechenden Weise wie das Hydrazon, habe ich auch das Semikarbazon mit Natriumäthylat im Autoklaven sechs bis acht Stunden auf 180 bis 190° erhitzt. Auch die Aufarbeitung ist die gleiche wie beim Hydrazon. Beim Verdampfen des Äthers scheidet sich eine Säure ab, die, aus Aceton umkristallisiert, bei 270° ohne Gasentwicklung zu einem braunen Öl schmilzt. Auch aus Eisessig und Wasser kann man die Substanz in schönen Nadeln erhalten. Mit Diazomethan liefert sie einen Trimethylester, der bei 142° schmilzt und aus verdünntem Methylalkohol in langen Nadeln kristallisiert.

Titration der Säure 270°.

0,020 g Sbst. verbrauchten 1,43 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH $C_{24}H_{36}O_7$ Äquivalentgewicht. Ber. 145,4, Gef. 140.

Analyse der Säure 270°.

3,064 mg Sbst.: 7,402 mg CO_2, 2,300 mg H_2O $C_{24}H_{36}O_7$. Ber. C 66,04, H 8,31, Gef. C 65,92, H 8,40.

Analyse des Esters 142°.

2,780 mg Sbst.: 6,925 mg CO_2, 2,118 mg H_2O $C_{27}H_{42}O_7$.
Ber. C 67,77, H 8,85. Gef. C 67,97, H 8,85.

Behandlung des „Semikarbazons“ mit Natriumäthylat im Autoklaven bei 220°.

Steigert man bei dem eben beschriebenen Versuch die Temperatur im Autoklaven eine halbe Stunde lang auf 220° und erhitzt dann noch sechs bis acht Stunden auf 180 bis 190°, so erhält man ein anderes Reaktionsprodukt. Die erhaltene Säure schmilzt bei 240°. Verestert man mit Diazomethan, so entsteht ein Ester, dessen erster Schmelzpunkt bei 80° liegt. Dieser Ester ist aber nicht einheitlich. Aus reinem Methylalkohol kristallisieren zuerst rechteckige Tafeln vom Schmelzpunkt 108° aus. Durch Verseifung erhält man daraus eine Säure vom Schmelzpunkt 240°. In den Mutterlaugen des Esters 108° befinden sich noch einige Ester. So wurde ein Produkt vom Schmelzpunkt 93 bis 94° isoliert. Es ist jedoch durchaus nicht sicher, ob diese letztgenannten Produkte einheitlich sind.

Analyse der Säure 240°.

Die Analyse stimmt auf die Formel $C_{24}H_{38}O_6$. Die Ketogruppe scheint also tatsächlich reduziert worden zu sein.

2,883 mg Sbst.: 7,198 mg CO_2, 2,368 mg H_2O $C_{24}H_{38}O_6$.
Ber. C 68,21, H 9,07, Gef. C 68,13, H 9,18.

Versuch die Säure 270° zu destillieren.

Eine kleine Menge der Säure 270° wurde im Hochvakuum bei etwa 250° destilliert. Aus dem Destillat wurde überraschenderweise die Säure unverändert zurückerhalten.

Eine Probe der Säure vom Schmelzpunkt 270° wurde mit Essigsäureanhydrit im Bombenrohr eingeschlossen und

etwa acht Stunden auf 180° erhitzt. Nach dem Öffnen der Bombe erhielt ich die Säure 270° unverändert zurück.

Versuch die Hyo-desoxybiliansäure mit Natrium und Alkohol zu reduzieren.

2 g Hyo-desoxybiliansäure wurden in etwa 50 bis 60 ccm Alkohol gelöst und im Laufe einer Stunde allmählich etwa 10 g Natrium eingetragen. Die Aufarbeitung geschah so, daß man die Lösung mit viel Wasser verdünnte und diese dann angesäuert wurde. Der ausgeschiedene Niederschlag wurde abgesaugt, in Äther aufgenommen, die ätherische Lösung getrocknet und eingedampft, der Rückstand mit Diazomethan verestert und der erhaltene Ester aus wenig Äther zur Kristallisation gebracht. Die Kristalle erwiesen sich als unveränderter Hyo-desoxybiliansäureester vom Schmelzpunkt 128 bis 129°.

Versuch das erhaltene Produkt im Hochvakuum zu destillieren.

Etwa 1 g des zurückgewonnenen Esters der Hyo-desoxybiliansäure wurde aus einer kleinen Retorte aus schwer schmelzbarem Glase bei etwa 4 mm Druck destilliert. Als Destillat sammelte sich ein klarer, hellgelber Tropfen im Retortenhals. Er wurde mit Methylalkohol herausgelöst, die Lösung mit etwas Wasser angespritzt und der allmählichen Kristallisation überlassen. Nach einiger Zeit schieden sich Nadeln ab, die zunächst bei etwa 95° schmolzen. Nach etwa fünf- oder sechsmaligem Umkristallisieren aus Methylalkohol und Wasser schmolz der Stoff konstant bei 142°. Das Destillationsprodukt schien ein Gemisch zu sein, das außer dem Ester 142° noch andere Stoffe enthielt. Verseifte man diesen Ester, so bekam man eine Säure vom Schmelzpunkt 265 bis 266°.

Titration der Säure 265 bis 266°.

0,0302 g Sbst. verbrauchten 1,46 ccm $\frac{n}{10}$ KOH $C_{23}H_{36}O_5$ (zweibasisch) Äquivalentgewicht. Ber. 196, Gef. 206.

Analyse der Säure 265 bis 266°.

3,046 mg Sbst.: 7,863 mg CO_2, 2,448 mg H_2O $C_{23}H_{36}O_5$. Ber. C 70,37, H 9,25, Gef. C 70,43, H 8,99.

Weitere Destillationsversuche mit Hyo-desoxybiliansäureester.

Destilliert man bei etwa 0,5 mm Vakuum, so erhält man wieder ein Gemisch verschiedener Stoffe. Der Ester vom Schmelzpunkt 142° konnte in diesem Gemisch allerdings nicht aufgefunden werden, dafür aber ein Ester vom Schmelzpunkt 120 bis 121°. Die Analyse des Esters besagt, daß der Hyo-desoxybiliansäureester ein Molekül OH abgegeben hat. Durch Verseifung erhält man die Hyo-desoxybiliansäure zurück, welche mit Hilfe ihres Esters identifiziert wird.

Außer dem Ester 120° findet man im Destillationsgemisch noch einen Ester vom Schmelzpunkt 107 bis 109°, ein Isomeres des vorigen Esters. Verseift man dieses Produkt, so erhält man ebenfalls Hyo-desoxybiliansäure zurück.

Methoxylbestimmung des Esters 121°.

3,168 mg Sbst.: 3,066 mg Ag J $C_{26}H_{38}O_6$. Ber. CH_3O 13,8. Gef. 12,8.

Leider konnte wegen Substanzmangels kein besserer Wert mehr erhalten werden. Immerhin stimmt das Resultat der Größenordnung nach auf zwei Methoxylgruppen.

Analyse des Esters 121° (Enollaktonester).

3,202 mg Sbst.: 8,182 mg CO_2, 2,495 mg H_2O $C_{26}H_{38}O_6$. Ber. C 69,91, H 8,57, Gef. C 69,73, H 8,71.

Oxydationsversuche mit Salpetersäure.

1 g Hyo-desoxybiliansäure wurde mit 7 ccm Salpetersäure vom spez. Gewicht 1,2 übergossen und das Gemisch auf dem Wasserbade erwärmt, bis die Entwicklung von

Oxyden des Stickstoffs aufhörte (etwa 40 Minuten). Die Hyo-desoxybiliansäure ging zunächst in Lösung. Nach einiger Zeit begann eine Absonderung von Kristallen, die sich über Nacht noch vermehrte. Diese Kristalle wurden aus Eisessig und Wasser umkristallisiert und schmolzen bei 217 bis 218° unter Zersetzung. Der erhaltene Stoff, welcher in Blättchen kristallisiert, erwies sich als stickstoffhaltig. Seine Analyse stimmt auf $C_{24}H_{35}O_9N$. Der zugehörige Trimethylester, welcher in Nadeln kristallisiert, schmilzt bei 176 bis 177°.

Analyse der Säure $C_{24}H_{35}O_9N$.

2,696 mg Sbst.: 5,886 mg CO_2, 1,774 mg H_2O $C_{24}H_{35}O_9N$. Ber. C 59,98, H 7,32, Gef. C 59,57, H 7,36.

4,526 mg Sbst. 0,117 ccm N_2 (17°, 741 mm), Ber. N 2,91, Gef. N 2,96.

Titration der Säure $C_{24}H_{35}O_9N$.

0,159 g Sbst. verbrauchten 8,05 ccm 0,1254 n NaOH $C_{24}H_{35}O_9N$ Äquivalentgewicht. Ber. 160,4, Gef. 157,5.

Analyse des Esters $C_{27}H_{41}O_9N$.

2,814 mg Sbst.: 6,363 mg CO_2, 2,021 mg H_2O $C_{27}H_{41}O_9N$. Ber. C 61,91, H 7,90, Gef. C 61,72, H 8,03.

7,540 mg Sbst. 0,204 ccm N_2 (19°, 741 mm) Ber. N 2,67, Gef. N 3,08.

Die vorliegende Arbeit wurde im Universitätslaboratorium zu Göttingen vom November 1922 bis Juli 1924 auf Anregung von Herrn Professor Dr. A. Windaus ausgeführt.

Es ist mir ein Bedürfnis, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. Windaus für die mannigfache Unterstützung und das mir stets entgegengebrachte Wohlwollen meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Als Sohn des damaligen Lehrers an der großherzoglich-hessischen Obst- und Weinbauschule zu Oppenheim am Rhein, des Professors Dr. Alfred Koch und seiner Gattin Mathilde Koch, geb. Amendt, wurde ich, Richard Koch, am 23. November 1900 zu Oppenheim am Rhein geboren. Im Jahre 1901 folgte mein Vater einem Rufe an die Universität Göttingen, auf den neugegründeten Lehrstuhl für landwirtschaftliche Bakteriologie. Seit dieser Zeit wohnen wir in Göttingen, wo ich auch die Kaiser Wilhelm II.-Oberrealschule besuchte. Im Juni 1918 verließ ich die Anstalt mit Oberprimareife, um Seekadett in der damaligen kaiserlichen Marine zu werden. Durch die Revolution und das unglückliche Ende des Krieges fand meine Laufbahn einen raschen Abschluß. Von April bis Juli 1919 diente ich noch bei einigen Heimatschutzformationen. Ich war seit Weihnachten 1918 bereits an der Universität Göttingen immatrikuliert. Im Juni 1919 erhielt ich laut Ministerialerlaß das Zeugnis der Reife und begann sofort mit dem Studium der Chemie. Ich habe vom Herbstzwischensemester 1919 an bis August 1924 ununterbrochen in Göttingen studiert.

Meine Lehrer waren die Herren: Borsche, Dürken, Ehrenberg, Frank, Handovsky, Koch, Kötz, Pohl, Reichenbach, Remy, Rippel, Tammann, v. Traubenberg, Wienhaus, Windaus und Zsigmondy.

Allen meinen Lehrern bin ich zu stetem Danke verpflichtet.